

REIVINDICACIONES

1. Una variante de progranulina, en donde los últimos tres aminoácidos en el extremo C-terminal de la variante de progranulina, correspondientes a los aminoácidos 574 a 576 de la SEQ ID NO:2, son PIL, PFL, PPL, PYL QRL, QKL, o QHL.

2. La variante de progranulina de la reivindicación 1, donde la variante de progranulina comprende una secuencia de aminoácidos que tiene

(a) 90 % a 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 3;

(b) 95 % a 100 % de identidad con la SEQ ID NO:3;

(c) 98 % a 100 % de identidad con la SEQ ID NO:3; o

(d) 99 % a 100 % de identidad con la SEQ ID NO:3.

3. La variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde la variante de progranulina tiene la secuencia de:

TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHC
SAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRG
NNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCP
HGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPDARSRCPDG
STCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTD
LLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIH
CCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVS
SCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGS
EIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPH
AVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAPATFLARSPHVGVKDVEC

GEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARG
TKCLRREAPRWDAPLRDPALRX₁X₂X₃ (SEQ ID NO:3).

4. Un polipéptido de fusión que comprende la variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 5 5. El polipéptido de fusión de la reivindicación 4, donde el polipéptido de fusión comprende un polipéptido Fc que está unido a la variante de progranulina.
6. El polipéptido de fusión de la reivindicación 4 o 5, donde el extremo N o el extremo C del polipéptido Fc está unido a la variante de progranulina.
- 10 7. El polipéptido de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, donde el polipéptido Fc está unido a la variante de progranulina a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico.
8. El polipéptido de fusión de la reivindicación 7, donde el enlazador polipeptídico tiene una longitud de 1 a 50 aminoácidos.
- 15 9. El polipéptido de fusión de la reivindicación 8, donde el enlazador polipeptídico es un enlazador polipeptídico flexible.
10. El polipéptido de fusión de la reivindicación 9, donde el enlazador polipeptídico flexible es un enlazador con alto contenido de glicina.
11. El polipéptido de fusión de la reivindicación 10, donde el enlazador con alto contenido de glicina es G₄S (SEQ ID NO:90) o (G₄S)₂ (SEQ ID NO:91).
- 20 12. El polipéptido de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 11, donde el polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:64-67.

- 13.El polipéptido de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 11, donde el polipéptido Fc es un polipéptido Fc modificado que se une específicamente a un receptor de transferrina.
- 5 14.El polipéptido de fusión de la reivindicación 13, donde el polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:68-87 y 129-132.
- 15.El polipéptido de fusión de la reivindicación 14, donde el polipéptido Fc comprende una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO:70, 75, 80, 85 y 129-132.
- 10 16.Una proteína de fusión que comprende:
- (a) una variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3;
- (b) un primer polipéptido Fc que está unido a la variante de progranulina de (a); y
- 15 (c) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de polipéptido Fc con el primer polipéptido Fc.
- 17.La proteína de fusión de la reivindicación 16, donde el segundo polipéptido Fc está unido a una segunda variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 20 18.La proteína de fusión de la reivindicación 16 o 17, donde el primer polipéptido Fc está unido a la variante de progranulina a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico, y/o el segundo polipéptido Fc está unido a la variante de progranulina a través de un enlace peptídico o enlazador polipeptídico.

19. La proteína de fusión de la reivindicación 18, donde el enlazador polipeptídico tiene una longitud de 1 a 50 aminoácidos.

20. La proteína de fusión de la reivindicación 18, donde el enlazador polipeptídico es un enlazador polipeptídico flexible.

5 21. La proteína de fusión de la reivindicación 20, donde el enlazador polipeptídico flexible es un enlazador con alto contenido de glicina.

22. La proteína de fusión de la reivindicación 21, donde el enlazador con alto contenido de glicina es G_4S (SEQ ID NO:90) o $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:91).

10 23. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 22, donde el extremo C del primer polipéptido Fc se une al extremo N de la variante de progranulina y/o el extremo C del segundo polipéptido Fc se une al extremo N de la variante de progranulina.

15 24. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 23, donde el primer polipéptido Fc o el segundo polipéptido Fc se une específicamente a un receptor de transferrina.

25. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 24, donde cada uno del primer polipéptido Fc y el segundo polipéptido Fc comprende modificaciones que promueven la heterodimerización,

donde:

20 (i) el primer polipéptido Fc comprende una sustitución T366W y el segundo polipéptido Fc comprende sustituciones T366S, L368A y Y407V, de acuerdo con la numeración EU; o

(ii) el primer polipéptido Fc comprende sustituciones T366S, L368A y Y407V y

el segundo polipéptido Fc que comprende una sustitución T366W, de acuerdo con la numeración EU.

5 26. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 25, donde el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprende independientemente modificaciones que reducen la función efectora.

27. La proteína de fusión de la reivindicación 26, donde las modificaciones que reducen la función efectora son sustituciones L234A y L235A, de acuerdo con la numeración EU.

10 28. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 27, donde el polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:64-67 y/o

el segundo polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:68-87 y 129-132.

15 29. La proteína de fusión de la reivindicación 28, donde el segundo polipéptido Fc comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:70, 75, 80, 85 y 129-132.

30. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 29, donde una región bisagra o una parte de esta está unida al primer polipéptido Fc y/o al segundo polipéptido Fc.

20 31. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 30, donde:

(a) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:98 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

(b) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:98 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

5 (c) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:99 y el segundo polipéptido Fc la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

10 (d) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:99 y el segundo polipéptido Fc la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

(e) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:100 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

15 (f) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:100 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

20 (g) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:101 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

(h) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:101 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

25 (i) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:102 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

(j) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:102 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

5

(k) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:123 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

(l) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:123 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

10

(m) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:124 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

15

(n) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:124 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

(o) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:125 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

20

(p) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:125 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130;

(q) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:126 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

(r) el primer polipéptido Fc unido a la variante de progranulina comprende la secuencia de la SEQ ID NO:126 y el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130.

5 32. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 31, donde la proteína de fusión se produce en una célula de ovario de hámster chino (CHO).

33. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 32, donde

(a) 50 % a 99 % de las proteínas de fusión no se clivan en el extremo C de la porción de la variante de progranulina de la proteína de fusión cuando se producen en células CHO;

10 (b) el valor de K_D para la unión a sortilina de la proteína de fusión es de 0 a 100 nM; y/o

(c) la EC_{50} para la unión a sortilina de la proteína de fusión es de 0 a 25 nM.

34. La proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 33, donde:

15 (a) la EC_{50} para la unión a sortilina de la proteína de fusión presenta una disminución de 0 a 10 veces en la unión a sortilina en comparación con una proteína de fusión de referencia que comprende (i) un primer polipéptido que comprende la SEQ ID NO:2 y (ii) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de polipéptido Fc con el primer polipéptido Fc, y/o

20 (b) donde la EC_{50} para la unión a sortilina de la proteína de fusión presenta una disminución de 0 a 10 veces en la unión a sortilina en comparación con una proteína de fusión de referencia que comprende (i) un primer polipéptido que comprende la SEQ ID NO:108 y (ii) un segundo polipéptido Fc que forma un dímero de polipéptido Fc con el primer polipéptido Fc.

35. La proteína de fusión de la reivindicación 34, donde la proteína de fusión de referencia se produce en una célula HEK.

36. Una composición farmacéutica que comprende:

5 (a) la variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, el polipéptido de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 15 o la proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 35 y un portador farmacéuticamente aceptable, o

(b) una pluralidad de la proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 35 y un portador farmacéuticamente aceptable.

10 37. La composición farmacéutica de la reivindicación 36, donde del 50 % a 100 % de la pluralidad de la proteína de fusión comprende un extremo C intacto en la variante progranulina de la proteína de fusión.

15 38. Uno o más polinucleótidos que comprenden (i) una secuencia de ácido nucleico que codifica la variante de progranulina de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, (ii) una secuencia de ácido nucleico que codifica el polipéptido de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 15, o (iii) una o más secuencias de ácido nucleico que codifican el primer polipéptido Fc de (b) y/o el segundo polipéptido Fc de (c) de la proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 35.

20 39. Uno o más vectores que comprenden uno o más polinucleótidos de la reivindicación 38.

40. Una célula hospedadora que comprende uno o más polinucleótidos de la reivindicación 38 o uno o más vectores de la reivindicación 39, en la que la célula hospedadora es una célula de mamífero.

41. La célula hospedadora de la reivindicación 40, donde uno o más polinucleótidos

comprenden una o más secuencias de ácidos nucleicos que codifican el primer polipéptido (b) y el segundo polipéptido Fc (c) de la proteína de fusión de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 35.

42. La célula hospedadora de la reivindicación 41, donde el segundo polipéptido Fc tiene una secuencia que se selecciona de cualquiera de las SEQ ID NO: 61 y 64-87.

43. Un método para producir un polipéptido, que comprende el cultivo de la célula hospedadora de cualquiera de las reivindicaciones 40 a 42 en condiciones en las que se expresa uno o más polipéptidos codificados por uno o más polinucleótidos de la reivindicación 38.